

Ю.С. ВИННИК, С.С. ДУНАЕВСКАЯ, Д.А. АНТЮФРИЕВА,
В.В. ДЕУЛИНА



ВЛИЯНИЕ ИММУННОГО СТАТУСА И БЛЕББИНГА ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ ЛИМФОЦИТОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ ПЕРИПАНКРЕАТИЧЕСКОГО ИНФИЛЬТРАТА ПРИ ТЯЖЕЛОМ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ

Красноярский государственный медицинский университет
им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск,
Российская Федерация

Цель. Выявить особенности иммунного статуса и блеббинга лимфоцитов, связанные с течением перипанкреатического инфильтрата при тяжелом остром панкреатите.

Материал и методы. 86 пациентов с тяжелым острым панкреатитом и перипанкреатическим инфильтратом, поступивших в Ia фазу заболевания. У 42 пациентов наблюдали полное разрешение инфильтрата (I группа). Во II группу вошли 44 пациента, у которых сформировались псевдокисты и гнойные осложнения.

При поступлении клеточное звено иммунитета (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD19+, CD25+, CD72+, CD95+, HLA-DR+) оценивали методом непрямой иммунофлуоресценции, фагоцитарную активность – проточной цитометрией, интерлейкин-4, интерлейкин-6, интерлейкин-10 и фактор некроза опухоли альфа – иммуноферментным анализом, состояние мембраны лимфоцитов – фазово-контрастной микроскопией. Наличие инфильтрата определяли на 14-е сутки от начала заболевания.

Результаты. Т-лимфоциты, NK-клетки и CD25+ имели сильную обратную корреляцию с неблагоприятным течением. Существует сильная прямая корреляция CD95+ с неблагоприятным течением. Иммунорегуляторный индекс имел сильную обратную корреляцию с неблагоприятным течением $rS=-0,76$ ($p<0,001$). Интерлейкин-6 был повышен в обеих группах. Корреляция фактора некроза опухоли альфа с неблагоприятным течением $rS=0,69$, ($p<0,001$). Интерлейкин-10 был повышен в I группе. В I группе клеток в состоянии начального блеббинга было в 2 раза больше нормы, во II группе – в 3 раза. Терминальный блеббинг в I группе был в 4 раза выше нормы, во II группе – в 8 раз. Повышение суммарного блеббинга произошло за счет терминального блеббинга в обеих группах.

Заключение. Неблагоприятное течение перипанкреатического инфильтрата сопровождается лимфопенией, снижением относительной популяции Т-хелперов, NK-клеток, CD25+, увеличением CD95+, выраженным снижением иммунорегуляторного индекса, повышением интерлейкина-6, фактора некроза опухоли альфа, увеличением показателей терминального и суммарного блеббинга лимфоцитов.

Ключевые слова: панкреатит, перипанкреатический инфильтрат, иммунитет, блеббинг, лимфоцит, интерлейкин

Objective. To reveal the features of the immune status and blebbing of lymphocytes connected with the course of peripancreatic infiltrates in severe acute pancreatitis.

Methods. 86 patients with severe acute pancreatitis and peripancreatic infiltrates who came to Ia disease phase were studied. In 42 patients complete clearance of infiltrate was observed (the 1st group). 44 patients, in whom pseudocysts and purulent complications developed, made up the 2nd group.

On hospitalization, a cellular link of immunity (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD19+, CD25+, CD95+, CD72+, HLA-DR+) was estimated using the method of indirect immunofluorescence, phagocytes activity with flowing cytometry, interleukin-4, interleukin-6, interleukin-10 and tumor necrosis factor alpha – with the immunofermental analysis, the membrane state of lymphocytes – with phase and contrast microscopy. Presence of infiltrate was defined on the 14th day from the beginning of the disease.

Results. T-lymphocytes, NK-cells and CD25+ had a strong inverse correlation with unfavorable course. There is a strong direct correlation of CD95+ with unfavorable course. The immune regulatory index had a strong inverse correlation with unfavorable course of $rS=-0.76$, ($p<0.001$). Interleukin-6 was increased in both groups. There was the correlation of the tumor necrosis factor alpha with unfavorable course of $rS=0.69$, ($p<0.001$). Interleukin-10 was increased in the 1st group. In the 1st group the cells in the condition of the initial blebbing exceeded the norm in 2 times, in the 2nd group – in 3 times. The terminal blebbing in the 1st group was 4 times higher, in the 2nd group – in 8 times. Increase in the total blebbing happened due to a terminal blebbing in both groups.

Conclusions. The unfavorable course of peripancreatic infiltrates is followed by lymphopenia, decrease in relative population of T-helpers, NK-cells, CD25+, the increase in CD95+, expressed decrease in the immunoregulatory index, increase in interleukin-6, tumor necrosis factor alpha, increase in indicators of terminal and total blebbing of lymphocytes.

Keywords: pancreatitis, peripancreatic infiltrates, immunity, blebbing, lymphocyte, interleukin

Novosti Khirurgii. 2018 Nov-Dec; Vol 26 (6): 689-696

The articles published under CC BY NC-ND license

Influence of the Immune Status and Blebbing of the Lymphocytes Plasmatic Membrane on Peripancreatic Infiltrates Formation in Severe Acute Pancreatitis

Yu.S. Vinnik, S.S. Dunaevskaya, D.A. Antufrieva, V.V. Deulina



Научная новизна статьи

Впервые изучена взаимосвязь особенностей иммунного статуса и блеббинга лимфоцитов с течением перипанкреатического инфильтрата при тяжелом остром панкреатите. Установлено, что неблагоприятное течение перипанкреатического инфильтрата сопровождается лимфопенией, снижением относительного содержания Т-хелперов, NK-клеток, Т-лимфоцитов, CD25+, увеличением относительного числа клеток CD95+, выраженным снижением иммуно-регуляторного индекса, повышением интерлейкина-6, фактора некроза опухоли альфа, увеличением показателей терминального и суммарного блеббинга лимфоцитов.

What this paper adds

The interrelation of features of the immune status and blebbing of lymphocytes with the course of peripancreatic infiltrates in case of severe acute pancreatitis has been studied for the first time. It has been established that the adverse course of peripancreatic infiltrates is followed by lymphopenia, decrease in T-helpers, NK-cells, CD25+ T-lymphocytes, increase in CD95+ cells, decrease in the immune-regulatory index, increase in interleukin-6, tumor necrosis factor alpha, increase in indicators of a terminal and total blebbing of lymphocytes.

Введение

Тяжелый острый панкреатит продолжает оставаться одной из наиболее актуальных проблем неотложной хирургии. В последние годы отмечается постоянный рост заболеваемости острым панкреатитом, при этом достоверно чаще встречаются тяжелые его формы. Несмотря на развитие современных медицинских технологий, тяжелый острый панкреатит характеризуется высокой летальностью, достигающей 11-25% [1, 2]. Течение патологического процесса находит отражение в патоморфологических изменениях забрюшинной клетчатки [3].

Развитие заболевания сопровождается снижением абсолютного и относительного содержания CD3+, CD4+ и CD8+, повышением количества CD22+ и CD25+. В гуморальном звене происходит повышение концентрации IgG, IgA на фоне нормальных значений IgM. Активация цитокинового звена иммунитета характеризуется увеличением показателей ИЛ-1b, ИЛ-4, ИЛ-6 и ФНОa. Отмечается снижение фагоцитарной активности нейтрофилов на фоне повышения активности кислородозависимых процессов [4]. Однако наибольший интерес представляет прогнозирование течения патологического процесса, которое является принципиально возможным при комплексном учете множества факторов [5, 6, 7].

Цель. Выявить особенности иммунного статуса и блеббинга лимфоцитов, связанные с течением перипанкреатического инфильтрата при тяжелом остром панкреатите.

Материал и методы

Проведено обследование 86 пациентов с тяжелым острым панкреатитом, у которых

впоследствии сформировался перипанкреатический инфильтрат, поступивших по неотложной помощи в Ia фазу заболевания в период с 2016 по 2018 гг. Степень тяжести острого панкреатита, фазу заболевания, наличие местных осложнений, а также тактику лечения определяли согласно утвержденным клиническим рекомендациям Российского общества хирургов. Состояние поджелудочной железы и наличие перипанкреатического инфильтрата оценивали по КТ-ангиографии с болюсным контрастированием с помощью мультиспирального 4 срезового компьютерного томографа «Lightspeed» фирмы GeneralElectric с программой Bolustracking. Используемый контраст – Омнипак 100 мл, 350 мг/мл, 3 мл/с. Изображения представлены в корональной и аксиальной плоскостях, ширина среза 1,5 мм. КТ-ангиографии с болюсным контрастированием проводили на 14-е [10;16] сутки от начала заболевания. Динамическую оценку состояния поджелудочной железы и перипанкреатического инфильтрата проводили с помощью ультразвукового исследования (Aloka SSD 3500 трансдьюсером с частотой 3,5 МГц в серошкальном режиме) и по показаниям выполняли повторную КТ. Под перипанкреатическим инфильтратом согласно национальным клиническим рекомендациям понимали экссудативно-пролиферативный воспалительный процесс в поджелудочной железе и окружающих тканях, который сопровождается острым скоплением жидкости, располагающейся внутри или около поджелудочной железы и не имеющей стенок из грануляционной или фиброзной ткани, что соответствует англоязычному термину «acute fluid collection». Все пациенты получали консервативное лечение в соответствии с протоколами лечения острого панкреатита. На фоне проводимого консер-

вативного лечения у 42 (48,84%) пациентов наблюдали полное разрешение и рассасывание перипанкреатического инфильтрата на 4-6-ой неделе заболевания — эти пациенты вошли в I исследуемую группу, течение перипанкреатического инфильтрата у них следовало считать благоприятным. Во II исследуемую группу вошли 44 (51,16%) пациента с неблагоприятным течением перипанкреатического инфильтрата, у которых сформировались псевдокисты и развивались гнойные осложнения острого панкреатита, структура которых представлена в таблице 1.

Таким образом, в I группу вошло 38 мужчин и 4 женщины, возраст составил 48 [36; 68] лет, во II группу вошли 39 мужчин и 5 женщин, возраст составил 51 [33; 71] год, значимых различий между группами по возрастному и половому составу выявлено не было ($p=0,561$, $p=0,724$).

Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц, сопоставимых с исследуемыми группами по возрастному и половому составу.

Клеточное звено иммунитета оценивали при поступлении методом непрямой иммунофлюоресценции с моноклональными антителами к CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD19+, CD25+, CD72+, CD95+ и HLA-DR+-клеткам (ООО «Сорбент», г. Москва). Представлено относительное содержание исследуемых клеток иммунной системы. Иммунорегуляторный индекс (ИРИ) рассчитывали как соотношение Т-хелперов (CD4+) к Т-супрессорным клеткам (CD8+). Оценку фагоцитарной активности также проводили при поступлении методом проточной цитометрии. Фагоцитарный индекс (ФИ) и среднее число фагоцитированных частиц (ФЧ) определяли с помощью «Латекс-теста». Кроме того, оценивали тест восстановления нитросинеготетразолия (НСТ-тест).

Особенности цитокиновой регуляции анализировали при поступлении, определяли концентрации интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-6 (IL-6), интерлейкина-10 (IL-10) и фактора некроза опухоли альфа (TNF- α) в плазме крови методом иммуноферментного анализа (ОАО «Витал ДевелопментКорпорейшн»).

Состояние мембраны лимфоцитов оценивали у пациентов при поступлении, исследо-

вание проводили на базе НИИ молекулярной медицины и патобиохимии Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России. Культура клеток выделялась по стандартной методике: посредством центрифугирования периферической крови по градиенту плотности с Lympholyte H CL5010 «CedarlaneLaboratoriesLimited» (Канада). Визуализация осуществлялась методом фазово-контрастной микроскопии на микроскопе Olympus BX-41.

Статистика

Распределение исследуемых величин отличалось от нормального (тест Шапиро-Уилка), поэтому описательная статистика представлена в виде медианы (Me) и межквантильного интервала [Q1; Q3]. Для сравнения групп использовали U-критерий Манна-Уитни. Критический уровень статистической значимости принимали равным 0,05.

Взаимосвязи между парами признаков и степень их выраженности изучали с помощью множественного регрессионного анализа, вычисляли коэффициенты корреляции Спирмена, Гамма и Кен-дал-Тау, и уровни их значимости.

Полученные данные представлены в таблицах, где p — достоверность отличий исследуемой группы от группы контроля; p_1 — достоверность различий между исследуемыми группами; rS — коэффициент корреляции по Спирмену; p^* — двусторонняя значимость коэффициента корреляции по Спирмену.

Результаты

Для всех пациентов с тяжелым острым панкреатитом было характерно значимое увеличение абсолютного числа лейкоцитов, в I группе — $12,3 [12,0; 19,6] \times 10^9/\text{л}$, во II группе — $14,8 [14,1; 25,6] \times 10^9/\text{л}$, при этом достоверного различия между группами выявлено не было ($p_1=0,701$) (таблица 2). Особенностью тяжелого острого панкреатита являлось наличие у пациентов признаков лимфопении, при этом в группе пациентов, у которых в дальнейшем перипанкреатический инфильтрат перешел

Таблица 1

Структура осложнений у пациентов с тяжелым острым панкреатитом

	I группа (n=42)	II группа (n=44)
Псевдокиста поджелудочной железы	0	18 (40,90%)
Панкреатический абсцесс	0	14 (31,81%)
Гнойно-некротический парапанкреатит	0	12 (29,55%)
Летальность во II фазе ТОП	0	10 (22,72%)

Таблица 2

Показатели иммунного статуса пациентов с тяжелым острым панкреатитом на момент поступления (Ме [Q1; Q3])

Показатели	Контрольная группа, n=20	I группа, n=42	II группа, n=44	rS
Лейкоциты, ($\times 10^9/\text{л}$)	5,7 [4,2; 7,5]	12,3 [12,0; 19,6] $p<0,001$	14,8 [14,1; 25,6] $p<0,001$; $p_1=0,701$	$rS=0,49$ $p^*=0,124$
Лимфоциты, ($\times 10^9/\text{л}$)	2,1 [1,8; 3,4]	1,4 [1,0; 1,5] $p<0,001$	0,8 [0,6; 0,9] $p<0,001$; $p_1<0,001$	$rS=-0,86$ $p^*<0,001$
Лимфоциты, (%)	37,9 [34,1; 45,6]	28,4 [25,3; 34,8] $p=0,039$	19,5 [16,9; 21,4] $p<0,001$; $p_1<0,001$	$rS=-0,80$ $p^*<0,001$
CD3+, %	59,3 [57,0; 59,8]	55,2 [53,7; 57,6] $p=0,536$	21,4 [20,0; 23,00] $p<0,001$; $p_1<0,001$	$rS=-0,67$ $p^*<0,001$
CD4+, %	32,1 [30,4; 33,3]	23,4 [22,1; 27,4] $p=0,029$	15,7 [13,52; 17,10] $p<0,001$; $p_1<0,001$	$rS=-0,89$ $p^*<0,001$
CD8+, %	30,4 [29,2; 32,1]	29,6 [25,4; 31,1] $p=0,663$	26,9 [22,0; 29,3] $p=0,529$; $p_1=0,411$	$rS=0,36$ $p^*=0,049$
CD16+, %	16,6 [16,0; 17,4]	15,6 [14,2; 16,8] $p=0,702$	9,7 [7,6; 10,9] $p<0,001$; $p_1<0,001$	$rS=-0,79$ $p^*<0,001$
CD19+, %	13,3 [8,5; 15,1]	14,2 [8,4; 18,7] $p=0,607$	14,7 [12,3; 22,2] $p=0,624$; $p_1=0,872$	$rS=0,12$ $p^*=0,238$
CD25+, %	19,4 [13,4; 23,5]	16,4 [14,7; 20,4] $p=0,554$	7,5 [5,1; 10,0] $p<0,001$; $p_1<0,001$	$rS=-0,82$ $p^*<0,001$
CD72+, %	25,5 [15,9; 27,4]	16,2 [13,0; 24,6] $p=0,529$	10,2 [9,9; 13,6] $p=0,034$; $p_1=0,524$	$rS=-0,26$ $p^*=0,432$
CD95+, %	7,95 [6,50; 10,00]	10,1 [7,30; 16,20] $p=0,661$	19,4 [15,5; 21,0] $p<0,001$; $p_1<0,001$	$rS=0,82$ $p^*<0,001$
HLA-DR+, %	15,00 [12,00; 20,00]	13,5 [10,1; 18,7] $p=0,724$	9,7 [6,00; 10,4] $p<0,001$; $p_1=0,504$	$rS=-0,64$ $p^*<0,001$
ИРИ	1,15 [1,10; 1,21]	0,80 [0,75; 0,87] $p=0,014$	0,52 [0,49; 0,59] $p<0,001$; $p_1<0,001$	$rS=-0,76$ $p^*<0,001$
ФИ	68,0 [65,9; 75,6]	74,6 [68,5; 80,4] $p=0,724$	59,4 [53,5; 63,4] $p=0,029$; $p_1<0,001$	$rS=-0,59$ $p^*<0,001$
ФЧ	9,4 [8,5; 10,9]	8,2 [5,4; 9,2] $p=0,413$	7,3 [5,5; 8,0] $p=0,039$; $p_1=0,743$	$rS=-0,61$ $p^*<0,001$
НСТ-тест	8,5 [7,4; 9,5]	12,2 [9,9; 14,7] $p=0,526$	7,5 [3,9; 8,3] $p=0,397$; $p_1=0,052$	$rS=-0,69$ $p^*<0,001$

Примечание: p — достоверность отличий исследуемой группы от группы контроля; p_1 — достоверность различий между исследуемыми группами; rS — коэффициент корреляции по Спирмену; p^* — двусторонняя значимость коэффициента.

в псевдокисту или гнойные осложнения, содержание лимфоцитов было значимо ниже и составляло 0,8 [0,6; 0,9] $\times 10^9/\text{л}$ ($p_1<0,001$). При этом уровень лимфоцитов имел сильную обратную корреляцию с неблагоприятным течением перипанкреатического инфильтрата ($rS=-0,86$, $p^*<0,001$). Уровень Т-лимфоцитов (CD3+) у пациентов I группы не имел значимого отличия от группы контроля и составлял 55,2 [53,7; 57,6] % ($p=0,536$). А у пациентов II группы этот показатель составлял 21,4 [20,0; 23,00] % ($p<0,001$, $p_1<0,001$). Уровень Т-хелперов (CD4+) был снижен у всех исследуемых пациентов и составил в I группе — 23,4 [22,1; 27,4] % ($p=0,029$), во II группе — 15,7 [13,52; 17,10] % ($p<0,001$, $p_1<0,001$). Также наблюдали сильную обратную корреляцию между содержанием Т-хелперов и неблагоприятным течением перипанкреатического инфильтрата ($rS=-0,89$, $p^*<0,001$). Уровень

Т-супрессоров (CD8+) не имел значимого различия между исследуемыми и контрольной группами. У пациентов II группы наблюдали снижение NK-клеток (CD16+) до 9,7 [7,6; 10,9] % ($p<0,001$, $p_1<0,001$) и сильную обратную корреляцию с неблагоприятным течением перипанкреатического инфильтрата ($rS=-0,79$, $p<0,001$). Популяция В-лимфоцитов (CD19+) не отличалась от нормальных значений в обеих группах пациентов, и имела слабую прямую корреляцию с неблагоприятным течением перипанкреатического инфильтрата. Уровень Т-лимфоцитов с рецепторами к интерлейкину-2 (CD25+) отражает функциональную активность Т-лимфоцитов, их способность к пролиферации и дифференцировке, этот показатель был значимо снижен у пациентов II группы до 7,5 [5,1; 10,0] % ($p<0,001$, $p_1<0,001$). Уровень активированных Т-лимфоцитов имел сильную обратную корреляцию с неблаго-

приятным течением перипанкреатического инфильтрата, $rS=-0,82$, $p<0,001$. Популяция В-лимфоцитов с рецептором CD72+ была снижена во II группе 10,2 [9,9; 13,6] % ($p=0,034$, $p_1=0,524$), коэффициент корреляции с неблагоприятным течением перипанкреатического инфильтрата составил $rS=-0,26$ ($p^*=0,432$). Для пациентов II группы было характерно повышение числа клеток, маркированных рецептором CD95+, который является индуктором процесса апоптоза клеток (19,4 [15,5; 21,0]%, $p<0,001$, $p_1<0,001$). Кроме того, отметили сильную прямую корреляцию между уровнем клеток, отмеченных рецептором CD95+, и неблагоприятным течением перипанкреатического инфильтрата ($rS=0,82$, $p^*<0,001$). Снижение популяции клеток HLA-DR во II группе пациентов могло быть обусловлено общим снижением популяции Т-лимфоцитов. Снижение иммунорегуляторного индекса (ИРИ) характерно для всех пациентов с тяжелым острым панкреатитом, однако, во II группе отметили более выраженное его снижение до 0,52 [0,49; 0,59] ($p<0,001$, $p_1<0,001$), кроме того была выявлена сильная обратная корреляция ИРИ и неблагоприятного течения перипанкреатического инфильтрата ($rS=-0,76$, $p^*<0,001$). Для неблагоприятного течения перипанкреатического инфильтрата было характерно снижение функциональных показателей фагоцитарной активности иммунокомпетентных клеток.

Интерлейкин-6 (IL-6) при поступлении был повышен в обеих группах пациентов с тяжелым острым панкреатитом, в I группе этот показатель составил — 560 [515; 920] пг/мл ($p<0,001$), во II группе показатель составил 1030 [980; 1290] ($p<0,001$, $p_1=0,126$), кроме того, прослеживалась сильная прямая корреляция с неблагоприятным течением перипанкреатического инфильтрата ($rS=0,73$, $p^*<0,001$). Фактор некроза опухоли альфа

(TNF- α) имел значимое отличие от нормальных значений во II группе — 14,9 [12,6; 22,4] ($p<0,001$, $p_1<0,001$) и среднюю прямую корреляцию с неблагоприятным течением перипанкреатического инфильтрата ($rS=0,69$, $p^*<0,001$). Следует отметить, что противовоспалительный цитокин интерлейкин-10 (IL-10) был повышен по сравнению с контролем в группе пациентов с благоприятным течением перипанкреатического инфильтрата — 7,1 [6,1; 8,7] ($p<0,001$). Интерлейкин-4 (IL-4), отвечающий за рост и дифференцировку В-лимфоцитов, был несколько снижен у всех пациентов с тяжелым острым панкреатитом (таблица 3).

Характеризуя блеббинг лимфоцитов у пациентов с тяжелым острым панкреатитом следует отметить, что в I группе содержание клеток в состоянии начального блеббинга было в 2 раза выше, чем у практически здоровых лиц, во II группе этот показатель превышал показатель практически здоровых лиц в 3 раза и составлял 18,5 [15,4; 21,5]%. Корреляция с неблагоприятным течением перипанкреатического инфильтрата составляла $rS=0,61$ ($p^*<0,001$). Наиболее выраженные отличия наблюдали по такому показателю как терминальный блеббинг лимфоцитов: в I группе этот показатель был в 4 раза выше нормы и составил 19,4 [17,3; 21,2] % ($p<0,001$); во II группе он был в 8 раз выше нормы и составил 32,9 [27,9; 44,5] % ($p<0,001$, $p_1<0,001$). Выявили сильную прямую корреляцию между терминальным блеббингом лимфоцитов и неблагоприятным течением перипанкреатического инфильтрата ($rS=0,91$, $p^*<0,001$). Повышение суммарного блеббинга происходило преимущественно за счет лимфоцитов в состоянии терминального блеббинга в обеих группах, при этом в I группе этот показатель составил 31,5 [28,4; 34,2] % ($p<0,001$) во II — 52,7 [42,1; 66,7] % ($p<0,001$, $p_1<0,001$) (таблица 4).

Таблица 3

Показатели концентрации цитокинов у пациентов с тяжелым острым панкреатитом на момент поступления (Ме [Q1; Q3])

Показатель	Контрольная группа, n=20	I группа, n=42	II группа, n=44	rS
IL-6, пг/мл	110 [60; 178]	560 [515; 920] $p<0,001$	1030 [980; 1290] $p<0,001$; $p_1=0,126$	$rS=0,73$ $p^*<0,001$
TNF- α , пг/мл	5,4 [3,8; 8,2]	9,5 [7,7; 11,1] $p=0,523$	14,9 [12,6; 22,4] $p<0,001$; $p_1<0,001$	$rS=0,69$ $p^*<0,001$
IL-10, пг/мл	2,6 [1,5; 3,1]	7,1 [6,1; 8,7] $p<0,001$	3,0 [1,6; 5,3] $p=0,529$; $p_1<0,001$	$rS=-0,34$ $p^*<0,001$
IL-4, пг/мл	7,1 [5,2; 7,6]	3,5 [2,6; 5,8] $p=0,079$	2,4 [1,8; 3,5] $p=0,261$; $p_1<0,001$	$rS=-0,52$ $p^*<0,001$

Примечание: p — достоверность отличий исследуемой группы от группы контроля; p_1 — достоверность различий между исследуемыми группами; rS — коэффициент корреляции по Спирмену; p^* — двусторонняя значимость коэффициента.

Таблица 4

Показатели блеббинга лимфоцитов периферической крови у пациентов с тяжелым острым панкреатитом на момент поступления (Ме [Q1; Q3])

Показатель	Контрольная группа, n=20	I группа, n=42	II группа, n=44	rS
Лимфоциты в состоянии начального блеббинга, %	6,5 [5,0; 6,8]	11,9 [9,6; 12,8] p<0,001	18,5 [15,4; 21,5] p<0,001; p ₁ <0,001	rS=0,61 p*<0,001
Лимфоциты в состоянии терминального блеббинга, %	4,2 [1,8; 5,6]	19,4 [17,3; 21,2] p<0,001	32,9 [27,9; 44,5] p<0,001; p ₁ <0,001	rS=0,91 p*<0,001
Суммарный блеббинг, %	10,9 [10,3; 14,4]	31,5 [28,4; 34,2] p<0,001	52,7 [42,1; 66,7] p<0,001; p ₁ <0,001	rS=0,70 p*<0,001

Примечание: p – достоверность отличий исследуемой группы от группы контроля; p₁ – достоверность различий между исследуемыми группами; rS – коэффициент корреляции по Спирмену; p* – двусторонняя значимость коэффициента.

Обсуждение

Лимфоцитарное звено оказывает значимую роль на течение острого панкреатита. Многие исследования указывают на то, что для тяжелого течения заболевания характерна лимфопения, в том числе снижение популяции Т-хелперов (CD4+) [8]. Особенности клеточного иммунитета, такие как состояние общей популяции лимфоцитов, снижение популяции Т-хелперов, NK-клеток, Т-лимфоцитов с рецепторами к интерлейкину-2 (CD25+), увеличение популяции клеток, маркированных CD95+, выраженное снижение иммунорегуляторного индекса, указывающее на тяжелый иммунодефицит, играли важную роль в течении тяжелого острого панкреатита в нашем исследовании. Схожие данные были получены рядом исследователей [9, 10, 11].

Согласно литературным данным апоптоз Т-хелперов (CD4+) и снижение их популяции способствуют развитию синдрома системного воспалительного ответа (SIRS) у пациентов с тяжелым острым панкреатитом [12]. Согласно полученным данным для неблагоприятного течения перипанкреатического инфильтрата с дальнейшим развитием гнойных осложнений характерно выраженное снижение популяции CD4+ и высокая активность блеббинга лимфоцитов.

Массивный апоптоз лимфоцитов в периферической крови, тимусе и селезенке наблюдается при тяжелом остром панкреатите [13]. Механизмы развития клеточного апоптоза и его влияние на течение острого панкреатита представляют большой интерес [14].

Описанные в данной статье результаты говорят о значимом повышении провоспалительных цитокинов (IL-6, TNF-α) у пациентов с тяжелым острым панкреатитом и взаимосвязи цитокиновой активности с неблагоприятным развитием перипанкреатического инфильтрата. Они сравнимы с литературными данными о взаимосвязи уровня интерлейкинов и развитии

местных осложнений и полиорганной недостаточности при тяжелом остром панкреатите [15, 16].

Заключение

Таким образом, можно предположить, что неблагоприятное течение перипанкреатического инфильтрата сопровождается лимфопенией, снижением относительной популяции Т-хелперов, NK-клеток, Т-лимфоцитов с рецепторами к интерлейкину-2 (CD25+), увеличением относительной популяции клеток, маркированных CD95+, выраженным снижением иммунорегуляторного индекса, повышением уровня интерлейкина-6, фактора некроза опухоли альфа, увеличением показателей терминального и суммарного блеббинга лимфоцитов периферической крови.

Финансирование

Работа выполнялась в соответствии с планом научных исследований Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что конфликт интересов отсутствует.

Этика исследования

Исследование одобрено локально-этическим комитетом Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ермолов АС, Иванов ПА, Благовестнов ДА, Гришин АВ, Андреев ВГ. Диагностика и лечение острого панкреатита. Москва, РФ: Видар. 2013. 384 с.

2. Шорох ГП, Шорох СГ. Острый деструктивный панкреатит. Минск, РБ: Парадокс; 2013. 208 с.
3. Белорусец ВН, Карпицкий АС, Голубева НН. Морфологические изменения в забрюшинной клетчатке в ранней фазе острого некротизирующего панкреатита. *Новости Хирургии*. 2018;26(1):34-41. doi: 10.18484/2305-0047.2018.1.34
4. Винник ЮС, Дунаевская СС, Антюфьева ДА. Возможности современных методов визуализации острого тяжелого панкреатита. *Новости Хирургии*. 2014;22(1):58-62. doi: 10.18484/2305-0047.2014.1.58
5. Анищенко ВВ, Ким ДА, Барам ГИ, Морозов ВВ, Ковган ЮМ, Кан БВ, Короткий АГ. Обоснование необходимости раннего хирургического лечения больных с тяжелым острым панкреатитом по совокупности признаков. *Сиб Мед Обозрение*. 2017;105(3):43-49. doi: 10.20333/2500136-2017-3-43-49
6. Rosenberg A, Steensma EA, Napolitano LM. Necrotizing pancreatitis: new definitions and a new era in surgical management. *Surg Infect (Larchmt)*. 2015 Feb;16(1):1-13. doi: 10.1089/sur.2014.123
7. Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, Gooszen HG, Johnson CD, Sarr MG, Tsotos GG, Vege SS. Classification of acute pancreatitis – 2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut*. 2013;62(1):102-11. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302779>
8. Pietruczuk M, Dabrowska MI, Wereszczynska-Siemiatkowska U, Dabrowski A. Alteration of peripheral blood lymphocyte subsets in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol*. 2006;12(33):5344-51. doi: 10.3748/wjg.v12.i33.5344
9. Dabrowski A, Osada J, Dabrowska MI, Wereszczynska-Siemiatkowska U. Monocyte subsets and natural killer cells in acute pancreatitis. *Pancreatol-ogy*. 2008;8(2):126-34. doi: 10.1159/000123605
10. Hoque R. Update on innate immunity and perspectives on metabolite regulation in acute pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol*. 2016;32(6):507-12. doi: 10.1097/MOG.0000000000000311
11. Жулай ГА, Олейник ЕК, Островский КА, Олейник ВМ, Кравченко ПН. Субпопуляционный состав лимфоцитов как показатель иммунной супрессии при остром панкреатите. *Эксперим и Клин Гастроэнтерология*. 2014;(9):21-25. <https://cyberleninka.ru/article/n/subpopulyatsionnyy-sostav-limfotsitov-kak-pokazatel-immunnoy-supressii-pri-ostrom-pankreatite>
12. Mylona V, Koussoulas V, Tzivras D, Makrygiannis E, Georgopoulou P, Koratzanis G, Giamarellos-Bourboulis EJ, Tzivras MD. Changes in adaptive and innate immunity in patients with acute pancreatitis and systemic inflammatory response syndrome. *Pancreatol-ogy*. 2011;11(5):475-81. doi: 10.1159/000329460
13. Pinhu L, Qin Y, Xiong B, You Y, Li J, Sooranna SR. Overexpression of Fas and FasL is associated with infectious complications and severity of experimental severe acute pancreatitis by promoting apoptosis of lymphocytes. *Inflammation*. 2014;37(4):1202-12. doi: 10.1007/s10753-014-9847-8
14. Takeyama Y, Takas K, Ueda T, Hori Y, Goshima M, Kuroda Y. Peripheral lymphocyte reduction in severe acute pancreatitis is caused by apoptotic cell death. *J Gastrointest Surg*. 2000;4(4):379-87. [https://doi.org/10.1016/S1091-255X\(00\)80016-5](https://doi.org/10.1016/S1091-255X(00)80016-5)
15. Shen Y, Cui N, Miao B, Zhao E. Immune dysregulation in patients with severe acute pancreatitis. *Inflammation*. 2011 Feb;34(1):36-42. doi: 10.1007/s10753-010-9205-4

16. Shen Y, Deng X, Xu N, Li Y, Miao B, Cui N. Relationship between the degree of severe acute pancreatitis and patient immunity. *Surg Today*. 2015;45(8):1009-17. doi: 10.1007/s00595-014-1083-1

REFERENCES

1. Ermolov AS, Ivanov PA, Blagovestnov DA, Grishin AV, Andreev VG. Diagnostika i lechenie ostrogo pankreatita. Moscow, RF: Vidar. 2013. 384 p. (in Russ.)
2. Shorokh GP, Shorokh SG. Ostryi destruktivnyi pankreatit. Minsk, RB: Paradox; 2013. 208 p. (in Russ.)
3. Belorusets VN, Karpitskii AS, Golubeva NN. Morphological changes in the retroperitoneal fat tissue in the early phase of acute necrotizing pancreatitis. *Novosti Khirurgii*. 2018 Jan-Feb;26(1):34-41. doi: 10.18484/2305-0047.2018.1.34 (in Russ.)
4. Vinnik YS, Dunaevskaya SS, Antufrieva DA. Possibility of the current methods of visualization at severe acute pancreatitis. *Novosti Khirurgii*. 2014 Jan-Feb;22(1):58-62. doi: 10.18484/2305-0047.2014.1.58 (in Russ.)
5. Anishchenko VV, Kim DA, Baram GI, Morosov VV, Kovgan YuM, Kan BV, Korkotyan AG. The substantiation of necessity the early surgical treatment of patients with heavy acute pancreatitis by the features complex. *Sib Med Obozrenie*. 2017;105(3):43-49. doi: 10.20333/2500136-2017-3-43-49. (in Russ.)
6. Rosenberg A, Steensma EA, Napolitano LM. Necrotizing pancreatitis: new definitions and a new era in surgical management. *Surg Infect (Larchmt)*. 2015 Feb;16(1):1-13. doi: 10.1089/sur.2014.123
7. Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, Gooszen HG, Johnson CD, Sarr MG, Tsotos GG, Vege SS. Classification of acute pancreatitis – 2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut*. 2013;62(1):102-11. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302779>
8. Pietruczuk M, Dabrowska MI, Wereszczynska-Siemiatkowska U, Dabrowski A. Alteration of peripheral blood lymphocyte subsets in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol*. 2006;12(33):5344-51. doi: 10.3748/wjg.v12.i33.5344
9. Dabrowski A, Osada J, Dabrowska MI, Wereszczynska-Siemiatkowska U. Monocyte subsets and natural killer cells in acute pancreatitis. *Pancreatol-ogy*. 2008;8(2):126-34. doi: 10.1159/000123605
10. Hoque R. Update on innate immunity and perspectives on metabolite regulation in acute pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol*. 2016;32(6):507-12. doi: 10.1097/MOG.0000000000000311
11. Zhylai GA, Oleinik EK, Ostrovskii KA, Oleinik VM, Kravchenko PN. Alterations of lymphocyte subsets and indicators of immune suppression in patients with acute pancreatitis. *Ekspierim i Klin Gastroenterologiya*. 2014;(9):21-25. <https://cyberleninka.ru/article/n/subpopulyatsionnyy-sostav-limfotsitov-kak-pokazatel-immunnoy-supressii-pri-ostrom-pankreatite>. (in Russ.)
12. Mylona V, Koussoulas V, Tzivras D, Makrygiannis E, Georgopoulou P, Koratzanis G, Giamarellos-Bourboulis EJ, Tzivras MD. Changes in adaptive and innate immunity in patients with acute pancreatitis and systemic inflammatory response syndrome. *Pancreatol-ogy*. 2011;11(5):475-81. doi: 10.1159/000329460
13. Pinhu L, Qin Y, Xiong B, You Y, Li J, Sooranna SR. Overexpression of Fas and FasL is associated with infectious complications and severity of experimen-

tal severe acute pancreatitis by promoting apoptosis of lymphocytes. *Inflammation*. 2014;37(4):1202-12. doi: 10.1007/s10753-014-9847-8

14. Takeyama Y, Takas K, Ueda T, Hori Y, Goshima M, Kuroda Y. Peripheral lymphocyte reduction in severe acute pancreatitis is caused by apoptotic cell death. *J Gastrointest Surg*. 2000;4(4):379-87. [https://doi.org/10.1016/S1091-255X\(00\)80016-5](https://doi.org/10.1016/S1091-255X(00)80016-5)

Адрес для корреспонденции

660077, Российская Федерация,
г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1,
Красноярский государственный медицинский
университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого
Минздрава России,
кафедра общей хирургии
им. проф. М.И. Гульмана,
тел. раб.: +963-191-29-70,
e-mail: Vikto-potapenk@yandex.ru,
Дунаевская Светлана Сергеевна

Сведения об авторах

Винник Юрий Семенович, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей хирургии, Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, г. Красноярск, Российская Федерация.

<http://orcid.org/0000-0002-8995-2862>

Дунаевская Светлана Сергеевна, д.м.н., доцент, профессор кафедры общей хирургии им. проф. М.И. Гульмана, Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, г. Красноярск, Российская Федерация.

<http://orcid.org/0000-0003-2820-4737>

Антюфьева Дарья Александровна, к.м.н., ассистент кафедры общей хирургии им. проф. М.И. Гульмана, Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, г. Красноярск, Российская Федерация.

<http://orcid.org/0000-0003-0190-7336>

Деулина Вера Валерьевна, очный аспирант кафедры общей хирургии им. проф. М.И. Гульмана, Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, г. Красноярск, Российская Федерация.

<http://orcid.org/0000-0002-7515-0500>

Информация о статье

Получена 2 июля 2018 года.

Принята в печать 11 декабря 2018 г.

Доступна на сайте 31 декабря 2018 г.

15. Shen Y, Cui N, Miao B, Zhao E. Immune dysregulation in patients with severe acute pancreatitis. *Inflammation*. 2011 Feb;34(1):36-42. doi: 10.1007/s10753-010-9205-4

16. Shen Y, Deng X, Xu N, Li Y, Miao B, Cui N. Relationship between the degree of severe acute pancreatitis and patient immunity. *Surg Today*. 2015;45(8):1009-17. doi: 10.1007/s00595-014-1083-1

Address for correspondence

660077, The Russian Federation,
Krasnoyarsk, Partizan Zheleznyak Str., 1,
Krasnoyarsk State Medical University
Named after Prof. V.F.Voino-Yasenetsky,
General Surgery Department
Named after Prof. M.I. Gulman,
Tel. office: +963-191-29-70,
e-mail: Vikto-potapenk@yandex.ru,
Sergeevna S. Dunaevskaya

Information about the authors

Vinnik Yuri S., MD, Professor, Head of the General Surgery Department named after Prof. M.I. Gulman, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation.

<http://orcid.org/0000-0002-8995-2862>

Dunaevskaya Svetlana S., MD, Associate Professor of the General Surgery Department named after Prof. M.I. Gulman, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation.

<http://orcid.org/0000-0003-2820-4737>

Antufrieva Daria A., PhD, Assistant of the General Surgery Department named after Prof. M.I. Gulman, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation.

<http://orcid.org/0000-0003-0190-7336>

Deulina Vera V., Full-Time Post-Graduate Student of the General Surgery Department named after Prof. M.I. Gulman, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation.

<http://orcid.org/0000-0002-7515-0500>

Article history

Arrived 02 July 2018

Accepted for publication 11 December 2018

Available online 31 December 2018